

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. April 2004 (08.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/029272 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12P 19/04

(74) Anwalt: WEICKMANN & WEICKMANN; Postfach
860 820, 81635 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/010570

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. September 2003 (23.09.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 44 124.3 23. September 2002 (23.09.2002) DE

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): DEGUSSA AG [DE/DE]; Dr.-Albert-Frank-Strasse 32, 83308 Trostberg (DE). SATIA GMBH [DE/DE]; Lise-Meitner-Strasse 34, 85354 Freising (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LÖTZBEYER, Thomas [DE/DE]; Primelstrasse 6, 85386 Eching (DE). VOLLAND, Michael [DE/DE]; Karl-Theodor-Str. 42, 85757 Karlsfeld (DE). WITTMANN, Eva [DE/DE]; Tilsiter Weg 2, 83301 Traunreut (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: MEDIUM CONTAINING WATER WITH INCREASED VISCOSITY, METHOD FOR PRODUCTION AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: WASSERHALTIGES MEDIUM MIT ERHÖHTER VISKOSITÄT, VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG UND VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a medium containing water which has increased viscosity. Said medium contains a gellable polymer component, comprising phenolic substituents, which is modified with the help of oxidases. The invention is characterised in that the modification occurs by means of a) a protein having polyphenol oxidase activity and/or b) an enzyme mixture containing hydrolases, oxidoreductases and peroxidases. The correspondingly modified medium is a gel, preferably in a (partially) dried or (partially) rehydrated state, whereby the viscosity of the strength of the gel can be controlled in a specific manner and the general viscosity of strength of the gel can become stable again after a drying step and rehydrating. The medium containing water does not contain any secondary products which affect the quality of the gel or the sensory properties thereof in a negative manner. The invention relates to a medium containing water, as well as to a method wherein corresponding media with increased viscosity can be produced and oxidoreductases, peroxidases, hydrolases and/or catalases are used. The media containing water can be used in the food industry, in cosmetics and for pharmaceutical purposes.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein wasserhaltiges Medium mit erhöhter Viskosität, das eine mit Hilfe von Oxidasen modifizierte gelierfähige Polymer-Komponente mit phenolischen Substituenten enthält, das dadurch gekennzeichnet ist, dass die Modifizierung durch a) ein Protein mit Polyphenoloxidase-Aktivität und/oder b) eine Enzym-Mischung enthaltend Hydrolasen, Oxidoreduktasen und Peroxidasen erfolgte. Bei dem entsprechend modifizierten Medium kann es sich um ein Gel, bevorzugt im (teil-)getrockneten oder (teil-)rehydratisierten Zustand handeln, dessen Viskosität bzw. Gelstärke gezielt eingestellt werden kann und selbst nach einem Trocknungsvorgang und einer Rehydratisierung die ursprüngliche Viskosität bzw. Gelstärke wieder stabil erreicht. Ausserdem weist das wasserhaltige Medium keine Nebenprodukte auf, die sich negativ auf die Qualität des Gels bzw. auf dessen sensorische Eigenschaften auswirken. Neben dem wasserhaltigen Medium wird auch ein Verfahren vorgestellt, mit dem entsprechende Medien mit erhöhter Viskosität hergestellt werden und das auf den Einsatz von Oxidoreduktasen, Peroxidasen, Hydrolasen und/oder Katalasen zurückgreift. Als Anwendungsgebiete sind für die vorgestellten wasserhaltigen Medien der Nahrungsmittelbereich, der Bereich der Kosmetik und pharmazeutische Zwecke vorgesehen.

WO 2004/029272 A1

Best Available Copy

Wasserhaltiges Medium mit erhöhter Viskosität, Verfahren zur Herstellung und Verwendung

Beschreibung

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein wasserhaltiges Medium mit erhöhter Viskosität, ein Verfahren zur Herstellung und die Verwendung des Mediums.

Texturierungssysteme spielen als Zusatzstoffe vor allem im Lebensmittel- und Kosmetikbereich eine wichtige Rolle und vermitteln den Mischungen, denen sie zugesetzt werden, die gewünschte Konsistenz. Von großer Bedeutung sind hierbei einerseits eine gezielte Erhöhung der Viskosität des Produktes sowie andererseits die Ausbildung von gelartigen Strukturen.

Ein Gel entsteht durch die Vernetzung zahlreicher Moleküle durch intermolekulare Wechselwirkungen. Dabei bildet sich ein dreidimensionales Netzwerk aus, in dem dann relativ große Mengen an Wasser gebunden werden können. Beispiele hierfür sind die Gelbildung von Pektinen in Gegenwart hoher Zuckerkonzentrationen oder nach der Zugabe von Ca^{2+} -Ionen bei der Konfitürenherstellung oder die Gelbildung von κ -Carrageenan in Gegenwart von K^+ -Ionen.

Auf Grund eines zu geringen Molekulargewichtes oder der fehlenden Möglichkeit zur Gelbildung durch hydrophobe oder elektrostatische Wechselwirkungen sind viele Polysaccharide, wie z.B. Zuckerrübenpektin nicht oder nur schlecht zur Erhöhung der Viskosität oder zur Gelbildung geeignet. Hier sind neue Technologien gewünscht, mit deren Hilfe die beschriebenen Limitierungen überwunden werden können.

Wie sich in den letzten Jahren zeigte, enthalten zahlreiche Polysaccharide der Pflanzenzellwand, wie z. B. das Pektin in Zuckerrüben oder

Mit diesem Medium konnten die gestellten Aufgaben voll erfüllt werden: Die erhöhte Viskosität kann durch die enzymatische Modifizierung tatsächlich gezielt eingestellt und ohne Nachreaktion stabil gehalten werden. Zudem
5 weisen die erfindungsgemäßen Medien keine der sonst nachteiligen Nebenprodukte auf. Völlig überraschend hat sich mit dem beanspruchten wasserhaltigen Medium aber gezeigt, dass die Viskositätserhöhung im Medium oder die damit einhergehende Gel-Bildung so exakt vorherbestimmt und im gewünschten Ausmaß auch über längere Zeit stabil beibehalten
10 werden können, dass diese Medien nun auch ihnen bislang völlig fremden Anwendungsgebieten zugänglich sind. Darüber hinaus ist die gewünscht eingestellte, ursprüngliche Gelstärke reproduzierbar: So kann das erfindungsgemäße wasserhaltige Medium ohne Weiteres problemlos getrocknet und anschließend selbst nach einer längeren Lagerzeit zum Gel
15 mit der ursprünglichen Ausprägung rehydratisiert werden.

Das gelförmige Medium kann aber auch eingefroren und wieder aufgetaut werden, ohne dass es zu einem signifikanten Wasseraustritt oder einer Zerstörung der Gelstruktur kommt. Schließlich kann das gebildete Gel auf
20 Temperaturen bis über 100 °C erhitzt werden, ohne dass sich dabei die Struktur oder das Wasserbindungsvermögen entscheidend ändern.

Dies war in dieser Ausprägung nicht vorhersehbar.

25 Nicht zuletzt aus diesem Grund sieht die vorliegende Erfindung vor, dass es sich beim erfindungsgemäßen Medium bevorzugt um ein Gel und besonders bevorzugt um ein Gel im (teil-)getrockneten und/oder (teil-)rehydratisierten Zustand handelt.

30 Polyphenoloxidasen weisen im Gegensatz zu den Laccasen (p-Diphenoloxidasen; EC 1.10.3.2) sowohl eine Monophenolase- als auch eine Diphenolase-Aktivität auf. Sie kommen in höherer Konzentration in

Pflanzen vor und dienen dort u. a. der Abwehr von Mikroorganismen durch Bildung polyphenolischer Verbindungen.

Die Polyphenoloxidasen vereinen also zwei verschiedene Enzymaktivitäten:

- 5 Zum einen eine Monophenolase-Aktivität, die die o-Hydroxylierung eines Monophenols zum o-Diphenol katalysiert und die diese Enzyme von anderen phenoloxidierenden Enzymen wie Peroxidase oder Laccase unterscheidet. Zum anderen besitzen die Polyphenoloxidasen eine Diphenolase-Aktivität, die eine Oxidation von zwei o-Diphenolen zu zwei o-Dichinonen und die
10 gleichzeitige Reduktion eines Sauerstoffmoleküls katalysiert.

Im Gegensatz zu Laccasen führt der Reaktionsschritt der Oxidation des Diphenols bei Polyphenoloxidasen nicht zu einem radikalischen Endprodukt der Enzymreaktion, weshalb es nicht zu den von der Laccase- und
15 Peroxidasereaktion bekannten unerwünschten Nebenreaktionen, wie Fettoxidation oder Bleichung kommt.

- Polyphenoloxidasen, wie z. B. die bekannte Tyrosinase [EC 1.14.18.1], kommen in Früchten, Knollen oder Blättern in höheren Konzentrationen vor,
20 so dass sie vereinzelt auch ohne Extraktion oder Aufreinigung für technologische Prozesse, z.B. bei der Teefermentation zur Herstellung von "Schwarzem Tee", genutzt werden.

- Auch in vielen Nebenprodukten, die bei der Lebensmittel-Verarbeitung
25 anfallen und die bisher nicht genutzt werden, finden sich in höheren Konzentrationen Tyrosinasen. So können hohe Tyrosinase-Aktivitäten im Fruchtwasser von Kartoffeln, einem Nebenprodukt der Kartoffelstärkproduktion, nachgewiesen werden. Meist reicht die Abtrennung der Stärke und der Faserbestandteile der Kartoffel aus, um einen Extrakt mit
30 einer für die enzymatische Quervernetzung von Zuckerrübenpektin ausreichenden Tyrosinase-Aktivität zu erhalten.

Die besonderen Vorteile der beanspruchten Modifizierung sind auch in der Polyphenoloxidase-Aktivität zu sehen, weshalb es als vorteilhaft anzusehen ist, wenn die Polymer-Komponente monophenolische Substituenten trägt.

- 5 In diesem Zusammenhang sieht die vorliegende Erfindung vorzugsweise auch ein Medium vor, dessen Polymer-Komponente mindestens ein Polysaccharid, insbesondere mit (un-)substituierten Zimtsäureester-Gruppen darstellt und das als Polysaccharid besonders bevorzugt ein Arabinoxylan und/oder ein Pektin enthält.

10

Besonders gute Eigenschaften zeigt das Medium gemäß vorliegender Erfindung, wenn die Pektin-Komponente aus Chenopodiaceen und insbesondere aus Zuckerrüben oder deren Pulpe stammt.

- 15 Die Erfindung sieht aber auch als besondere Variante ein Medium vor, das Pektin enthält, bei dem mindestens eine der Arabinose-Gruppen entfernt wurde, was vorzugsweise unter leicht sauren Bedingungen bei einem pH-Wert zwischen 6,0 und 7,5 erfolgt sein sollte und/oder mit Hilfe eines Enzyms, wofür besonders bevorzugt eine Arabinofuranosidase vorgesehen ist.

20

Die ebenfalls als bevorzugtes Polysaccharid berücksichtigte Arabinoxylan-Komponente kann im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere aus Cerealien wie z.B. Mais oder Weizen und diesbezüglich vor allem aus Mehl oder Schrot stammen.

25

Hinsichtlich der Polymer-Komponente sind Varianten als bevorzugt anzusehen, die mit einer Polyphenol-Oxidase und hier besonders bevorzugt mit einer Tyrosinase modifiziert wurden.

30

Die dafür eingesetzte Polyphenol-Oxidase kann dabei insbesondere aus Pflanzen der Familie der Solanaceen und besonders bevorzugt aus

Kartoffeln, aber auch aus Apfel, Aubergine, Chicoree, Banane, Avocado, Teestrauch oder auch aus Champignon stammen.

Alternativ oder ergänzend zur Modifizierung der Polymer-Komponente mit
5 einem Protein mit Polyphenoloxidase-Aktivität sieht die Erfindung es als
Wesentlich an, dass hierfür eine Enzym-Mischung eingesetzt wird.
Besonders bewährt hat sich dabei eine Variante bei der die Modifizierung mit
einer Enzym-Mischung durchgeführt wurde, die eine β -Galactosidase,
Glucose-Oxidase, Peroxidase und/oder gegebenenfalls eine Katalase
10 enthielt.

Wie bereits erwähnt, ist ein wichtiger Vorteil des erfindungsgemäßen
wasserhaltigen Mediums darin zu sehen, dass es getrocknet und
rehydratisiert werden kann, ohne dabei Qualitätseinbußen zu erleiden. Als
15 bevorzugt ist deshalb auch ein Medium anzusehen, das einem
Trocknungsprozess unterworfen wurde; dabei kann die Trocknung natürlich
durch niedrige (Gefriertrocknung) aber auch durch erhöhte Temperaturen
und in beiden Fällen auch im Vakuum erfolgen, was die Vorteile zusätzlich
belegt.

20 Ebenfalls vorgesehen ist erfindungsgemäß ein Medium, in dem die in ihm
enthaltenen Enzyme und besonders bevorzugt die für die Modifizierung
verantwortlichen Enzyme, nämlich insbesondere Oxidoreductasen,
Peroxidasen und/oder Hydrolasen, nach erfolgter Modifizierung in nicht
25 aktiver Form vorliegen, weshalb sie vor allem keine technologische Wirkung
mehr ausüben können.

Darüber hinaus haben sich Medien als besonders geeignet gezeigt, die
Enzyme enthalten, die chemisch und/oder thermisch inaktiviert wurden.

30

Bei der Verwendung einer Tyrosinase als typische Polyphenoloxidase ist
z. B. eine thermische Inaktivierung des Enzyms in einem Gel bei einer

Temperatur von 95 °C für 15 min möglich; zur chemischen Inaktivierung der Tyrosinase genügt die Zugabe einer 1 %-igen Ascorbinsäure-Lösung oder die Zugabe von 1 % Ascorbinsäure zum getrockneten Gel bzw. zur getrockneten viskosen Lösung.

5

Neben dem wasserhaltigen und speziell modifizierten Medium selbst berücksichtigt die vorliegende Erfindung auch dessen Verwendung im Nahrungsmittelbereich, im Bereich der Kosmetik und/oder für pharmazeutische Zwecke, besonders bevorzugt als Texturierungsmittel, viskositätsaufbauendes Agents, Geliermittel, als Filmbildner, als
10 rheologisches Zusatzmittel oder als Stabilisierungsmittel.

Das erfindungsgemäße Medium mit inaktivierten Enzymen kann somit ohne Weiteres Lebensmitteln und kosmetischen oder pharmazeutischen
15 Produkten zur Erhöhung der Viskosität oder zur Bildung einer gelartigen Struktur zugegeben werden. Insbesondere bei diesen Anwendungen kann das Enzym(-Gemisch), im Gegensatz zu den bisher bekannten Varianten, durch die Inaktivierung der Enzym-Komponente nicht mehr zur Bildung unerwünschter Nebenprodukte führen.

20

Darüber hinaus wird von der vorliegenden Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung eines wasserhaltigen Mediums mit erhöhter Viskosität beansprucht, das dadurch gekennzeichnet ist, dass

- 25 a) mindestens ein Teil einer gelierfähigen Polymer-Komponente mit phenolischen Substituenten in einem wässrigen Medium gelöst vorgelegt wird, dann
- b) der Lösung aus Stufe a) bei Raumtemperatur eine angelöste
30 Oxidoreduktase und/oder Peroxidase und/oder Hydrolase und/oder Katalase pflanzlichen oder pilzlichen Ursprungs zugesetzt wird, anschließend

- c) die Lösung aus Stufe b) für mindestens 15 Minuten bei Temperaturen zwischen 15 und 60 °C gerührt wird, und schließlich
- 5 d) gegebenenfalls die in der aus Stufe c) erhaltenen Lösung enthaltenen Enzyme thermisch und/oder chemisch inaktiviert werden.

Durch die Kombination der beanspruchten Verfahrensschritte wird gewährleistet, dass das so erhaltene Medium ebenfalls die Vorteile aufweist
10 bzw. entfaltet, die bereits vorgestellt worden sind.

Dabei ist durch Verfahrensschritt d) fakultativ vorgesehen, die Enzym-Komponente zu inaktivieren. Alle Reaktionen des zugesetzten Enzym (-Gemisches) sind damit beendet. Die Viskosität des Mediums oder dessen
15 Gelstärke ändert sich nicht mehr und auch die sonst unerwünschten Nebenreaktionen (Bleichung von Farbstoffen oder enzymatische Fettoxidationen) durch das zur Gelbildung eingesetzte Enzym(-Gemisch) können nicht mehr auftreten.

20 Als sehr vorteilhaft hat es sich gezeigt, wenn in Verfahrensstufe a) als Polymer-Komponente mindestens eine der Reihe Oligo- oder Polysaccharid-, Alkohol-, Lactat-, Glutamat-, Pektin- und ein Lactose-haltiges Medium, vorzugsweise Milch oder ein Milch-haltiges Medium vorgelegt wird.

25 Somit ist vorzugsweise die Verwendung von in Lebensmitteln enthaltenen Verbindungen vorgesehen, mit denen entweder im Verlauf einer Enzymreaktion Wasserstoffperoxid gebildet werden kann oder die zu Verbindungen umgesetzt werden können, mit denen während einer weiteren Enzymreaktion Wasserstoffperoxid gebildet werden kann. Die hierfür im
30 Medium beanspruchten Polysaccharide (Hydrolasen und Oxidasen), Oligosaccharide (Hydrolasen und Oxidasen), Alkohole (Alkohol-Oxidase und Peroxidase), Lactat (Lactat-Oxidase und Peroxidase), Glutamat

(Glutamat-Oxidase und Peroxidase) stehen für die Bildung von oxidierenden Substanzen zur Verfügung, wie sie für die enzymatische Gelbildung von Polysacchariden mit phenolischen Gruppen und zum Einsatz dieser oxidierenden Verbindungen zur Viskositätserhöhung oder Gelbildung durch enzymatische Quervernetzung der phenolhaltigen Polysaccharide eingesetzt bzw. benötigt werden.

Als ebenfalls bevorzugt ist es im Rahmen der vorliegenden Erfindung anzusehen, wenn in Verfahrensstufe b) mindestens eine Galaktosidase, Glucose-Oxidase, Meerrettich-Peroxidase, Laccase oder Polyphenol-Oxidase zugesetzt wird.

Lactose wird zwar bereits vereinzelt mit Hilfe von β -Galactosidase aus Milch- oder Milchprodukten entfernt, da ein nicht unerheblicher Teil der Bevölkerung unter einer Laktoseunverträglichkeit leidet. Die im bevorzugt eingesetzten Medium Milch vorhandene Laktose liefert beim vorliegenden Verfahren, nach Umsetzung mittels β -Galactosidase und Glukose-Oxidase, aber das für die Gelbildung mit Hilfe der Meerrettich Peroxidase benötigte Wasserstoffperoxid. Die Produkte dieser Enzymreaktion dienen im Verlauf der beschriebenen enzymatischen Reaktionskaskade somit als Hilfsstoffe für die Gelbildung. Man erreicht also zum ersten Mal mit dem vorgestellten Verfahren zwei Effekte: Zum einen wird die oft unerwünschten Laktose aus dem Lebensmittel entfernt, zum anderen erhält das Medium durch Gelbildung die gewünschte Texturierung.

Schließlich kann bei diesem Verfahren die aus Verfahrensstufe b) erhaltene Lösung - gegebenenfalls nach Zugabe weiterer gelierfähiger und gegebenenfalls modifizierter Polymere - mindestens einem Trocknungsschritt unterzogen werden. Dabei kann das aus dem Trocknungsschritt erhaltene Pulver gemäß vorliegender Erfindung dann später auch rehydratisiert werden.

- 13 -

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist in einem wasserhaltigen Medium mit erhöhter Viskosität zu sehen, das mit dem eben beschriebenen Verfahren herstellbar ist. Besonders bevorzugt wird dabei eine Variante, bei der die in ihm enthaltenen Enzyme und insbesondere die
5 in Verfahrensstufe b) zugesetzten Enzyme in nicht aktivierter Form vorliegen.

Wie das ebenfalls beanspruchte wasserhaltige Medium selbst kann auch jedes nach diesem Verfahren erhaltene wasserhaltige Medium im Nahrungsmittelbereich, im Bereich der Kosmetik und/oder für
10 pharmazeutische Zwecke, besonders bevorzugt als Texturierungsmittel, viskositätsaufbauendes Agens, Geliermittel, als Filmbildner, als rheologisches Zusatzmittel oder als Stabilisierungsmittel verwendet werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das erfindungsgemäße
15 wasserhaltige Medium mit erhöhter Viskosität seine besonderen Vorteile darin besitzt, dass seine Viskosität oder Gelstärke gezielt eingestellt werden kann, dass die erhaltene Viskosität oder Gelstärke stabil und dauerhaft ist und dass das Medium die ursprüngliche Viskosität oder Gelstärke auch nach vorangegangener Trocknung und Rehydratisierung wieder stabil und
20 reproduzierbar aufbaut. Daneben ist das erfindungsgemäße Medium frei von unerwünschten Nebenprodukten, da die zur Modifizierung eingesetzten oder auch alle anderen natürlich darin enthaltenen oder künstlich zugesetzten Enzyme inaktiviert werden können, wobei sich der jeweilige Inaktivierungsschritt keinesfalls negativ auf die Viskosität bzw. die Gelstärke
25 des Mediums auswirkt.

Im Hinblick auf Applikationen im Lebensmittel- oder Kosmetikbereich, wo nicht zuletzt auch der Einfluss der Matrix, d. h. der im Produkt befindlichen Inhaltsstoffe wie Proteine, Salze, Fette oder Zucker auf die Gelbildung von
30 großer Bedeutung ist, hat sich gezeigt, dass die mit Polyphenoloxidasen gebildeten Gele insbesondere in Gegenwart höherer Salz- und

Proteinkonzentrationen wesentlich besser sind als vergleichbare und mit Hilfe von Laccasen erhaltene Gele.

Die nachfolgenden Beispiele verdeutlichen die ausgeprägten Vorteile der vorliegenden Erfindung.

Beispiele

10 Beispiel 1

Quervernetzung des Mediums mit Tyrosinase und Trocknung sowie Rehydratisierung des erhaltenen Pulvers

0,75 g Pektin wurden in 25 ml 60 °C warmem Wasser eingerührt und vollständig gelöst. Dann wurde der pH-Wert der Lösung mit 0,1 M NaOH auf pH 6,0 eingestellt und 1 mg Tyrosinase (Sigma T-7755) zugegeben, die zuvor in 1 ml 100 mM H_2NaPO_4 -Puffer (pH 6,5) gelöst worden war. Die Reaktions-Lösung wurde im Wasserbad zunächst für 3 h in einem abgedeckten Gefäß bei 50 °C und danach für 20 h bei 20 °C stehen gelassen und anschließend das Gel bei – 18 °C Gel eingefroren. In der Gefriertrocknungsanlage wurde bei 0,1 hPa getrocknet. 0,3 g des getrockneten Pulvers wurden anschließend in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

25 Als Vergleich diente eine Reaktions-Lösung ohne Tyrosinase. Die Gelstärke der verschiedenen Proben mit/ohne Tyrosinase wurde mit einem Texture Analyser TA-XT2 (Stable Microsystems) mit einer Sonde P20 (20 mm) und einem zylindrischen Sensor, Aluminium 5 kg, bei einer Geschwindigkeit von 3 mm/sec und einem Weg von 5 mm gemessen. Die Gele befanden sich in Kristallisierschalen mit einem Durchmesser von 50 mm. Tabelle 1 zeigt die Abhängigkeit der Kraft F von der Enzymkonzentration.

Tabelle 1

Abhängigkeit der Gelstärke (Kraft F) von der Enzymkonzentration
(Konzentration Zuckerrübenpektin 3 %; pH 6)

5

Enzymkonzentration [mg/25 ml]	0 (Vergleich)	0,4	0,7	1,0
Kraft [g]	kein Gel	8	39	269

Beispiel 2

Quervernetzung des Mediums mit Tyrosinase aus Kartoffeln

- 10 Zur Extraktion der Tyrosinase aus Kartoffeln wurde 1 kg Kartoffeln entsaftet (Entsafter AFK, Aachen), der Kartoffelsaft bei 4000 U/min für 20 min zentrifugiert und der Überstand über Schwarzbandfilter filtriert. In 25 ml des so erhaltenen Filtrats wurden 0,75 g Zuckerrübenpektin unter Rühren bei 50 °C gelöst. Nachdem die nach 3 h bei 20 °C eingesetzte Gelbildung beendet
- 15 war wurde das Gel bei - 18 °C eingefroren und in der Gefriertrocknungsanlage bei 0,1 hPa getrocknet. Schließlich wurden 0,3 g des getrockneten Pulvers in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

20 Beispiel 3

Quervernetzung des Mediums mit β -Glukosidase/Glukose Oxidase/Meerrettichperoxidase-Mischung und Trocknung sowie Rehydratisierung des erhaltenen Pulvers

- 25 0,75 g Pektin und 3,5 mg Laktose wurden in 25ml 60 °C warmem Wasser eingerührt und vollständig gelöst. Dann wurde der pH-Wert der Lösung mit 0,1 M NaOH auf pH 6,0 eingestellt und 5 μ g β -Galaktosidase (Sigma G-6160), 250 μ g Glukose-Oxidase (Sigma G-7016) sowie 1 mg Peroxidase

- (Sigma P-6782) zugegeben, die zuvor zusammen in 1 ml 100 mM H_2NaPO_4 -Puffer (pH 6,5) gelöst worden waren. Die Reaktions-Lösung wurde dann 1 h bei 20 °C stehen gelassen und das entstandene Gel bei – 18 °C eingefroren. In der Gefriertrocknungsanlage wurde bei 0,1 hPa getrocknet.
- 5 0,3 g des getrockneten Pulvers wurden anschließend in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

Beispiel 4

- 10 Quervernetzung des Mediums mit Laccase, thermische Inaktivierung des Enzyms sowie Trocknung und Rehydratisierung des erhaltenen Pulvers (Vergleich)

- 0,375 g Pektin wurden in 25 ml 60 °C warmem Wasser eingerührt und
- 15 vollständig gelöst. Dann wurde der pH-Wert der Lösung mit 0,1 M NaOH auf pH 5,0 eingestellt und 0,2 mg Laccase C (ASA Enzyme, Best. Nr. 2020), die zuvor in 1 ml Wasser gelöst worden waren, zugegeben. Die Reaktions-Lösung wurde 24 h bei 20 °C stehen gelassen und dann die Laccase durch Erhitzen des Gels für 20 min auf 90 °C inaktiviert. Anschließend wurde das
- 20 Gel bei – 18 °C eingefroren und dann in der Gefriertrocknungsanlage bei 0,1 hPa getrocknet. 0,3 g des getrockneten Pulvers wurden abschließend in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

25 Beispiel 5

Quervernetzung des Mediums mit Tyrosinase und thermische Inaktivierung des Enzyms sowie Trocknung und Rehydratisierung des erhaltenen Pulvers

- 0,75 g Pektin wurden in 25 ml 60 °C warmem Wasser eingerührt und
- 30 vollständig gelöst. Dann wurde der pH-Wert der Lösung mit 0,1 M NaOH auf pH 6,0 eingestellt und 1,2 mg Tyrosinase (Sigma T-7755) zugegeben, die zuvor in 1 ml 100 mM H_2NaPO_4 -Puffer (pH 6,5) gelöst worden waren.

Anschließend wurde in einem Wasserbad und in einem abgedeckten Gefäß zunächst bei 50 °C für mindesten 2 h und danach für 20 h bei 20 °C stehen gelassen und dann die Tyrosinase durch Erhitzen des Gels für 40 min auf 90 °C inaktiviert. Das Gel wurde dann bei - 18 °C eingefroren und in der Gefriertrocknungsanlage bei 0,1 hPa getrocknet. Schließlich wurden 0,3 g des getrockneten Pulvers in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

Beispiel 6

Quervernetzung des Mediums mit Meerrettichperoxidase und thermische Inaktivierung des Enzymes sowie Trocknung und Rehydratisierung des erhaltenen Pulvers

0,5 g Pektin wurden in 25 ml 60 °C warmem Wasser eingerührt und vollständig gelöst. Dann wurde der pH-Wert der Lösung mit 0,1 M NaOH auf pH 6,0 eingestellt und 1 ml einer Lösung von 5 mg Peroxidase (Sigma P-6782) zugegeben, die in 100 ml eines 100 mM H_2NaPO_4 -Puffers (pH 6,5) gelöst worden waren. Nach Zugabe von 6 µl einer 3 % H_2O_2 Lösung wurde 10 s gerührt, 1 h bei 20 °C stehen gelassen und die Peroxidase durch Aufheizen des Gels für 40 min auf 90 °C inaktiviert. Anschließend wurde das Gel bei - 18 °C eingefroren und in der Gefriertrocknungsanlage bei 0,1 hPa getrocknet. Schließlich wurden 0,3 g des getrockneten Pulvers in 10 ml 60 °C warmem Wasser gelöst.

Beispiel 7

Quervernetzung von pflanzlichen Extrakten mit Laccase (Vergleich)

3,5 g einer getrockneten Zuckerrübenpulpe wurde in 100 ml Wasser gegeben und der pH-Wert der Mischung mit HNO_3 (28%-ig) auf pH 2 eingestellt. Dann wurde 15 h bei 70 °C gerührt, der pH-Wert mit 10 N NaOH

auf einen Wert von 3,3 eingestellt und 20 min bei 20 °C und 4000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand dialysiert:

Dialyse Schlauch Ø 48mm; 18 ml/cm; MWCO 12.000-14.000; äußere Phase:
5 1 800 ml Wasser pH 3,5 (eingestellt mit HNO₃), 20 h; 20 °C; äußere Phase:
5 000 ml Wasser pH 3,5, 22 h; 20 °C.

Das Dialysat wurde dann bei 50 °C und 80 hPa auf einen
Trockenmassegehalt von 3 % aufkonzentriert bevor zu 25 ml dieser Lösung
10 0,2 mg einer in 1 ml Wasser gelösten Laccase C (ASA Enzyme, Best. Nr.
2020) geben wurden. Es wurde dann 24 h bei 20 °C stehen gelassen.

Beispiel 8

15 Quervernetzung von pflanzlichen Extrakten mit Peroxidase

3,5 g getrockneter Reste aus der Zuckerrübenextraktion wurden in 100 ml
Wasser geben und der pH-Wert dieser Mischung mit HNO₃ (28%-ig) auf pH
2,0 eingestellt. Dann wurde 15 h bei 70 °C gerührt und der pH-Wert mit 10 N
20 NaOH auf pH 3,3 eingestellt, 20 min bei 20 °C und 4000 rpm zentrifugiert
und der Überstand bei 50 °C und 80 hPa auf einen Trockenmassegehalt von
3 % aufkonzentriert. Zu 25 ml dieser Lösung wurden 0,25 mg einer in 1 ml
Wasser gelösten Peroxidase (Sigma P-6782) und 6 µl einer 3 %igen H₂O₂
Lösung gegeben und das Gemisch 24 h bei 40 °C stehen gelassen.

25

Beispiel 9

Bildung eines Gels durch Zugabe eines Apfelpresseextraktes zu
Zuckerrübenpektin

30

200 g Äpfel wurden im Entsafter (Braun Modell 201) ausgepresst und der
Presssaft am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck (40 hPa) bei

40 °C auf einen Trockenmassegehalt von 20 % einrotiert. Zu 20 ml dieses aufkonzentrierten Presssaftes wurden 10 ml einer 4 %igen Zuckerrübenpektin-Lösung gegeben, dann gerührt und 24 h bei 40 °C stehen gelassen.

5

Weiterhin veranschaulichen die beiliegenden Abbildungen die vorliegende Erfindung. Abbildung 1 und 2 zeigen die unterschiedlichen relativen Gelstärken von Vergleichs-Medien aus Beispiel 4 (Laccase) und erfindungsgemäßen Medien aus Beispiel 5 (Tyrosinase):

10

Abb. 1 zeigt einen Vergleich der relativen Gelstärken von Tyrosinase und Laccase in Gegenwart verschiedener Salzkonzentrationen (NaCl).

15

Abb. 2 zeigt einen Vergleich der relativen Gelstärken von Tyrosinase und Laccase in Gegenwart verschiedener Proteinkonzentrationen (Rinderserumalbumin).

Ansprüche

- 5 1. Wasserhaltiges Medium mit erhöhter Viskosität, enthaltend eine mit Hilfe von Oxidasen modifizierte gelierfähige Polymer-Komponente mit phenolischen Substituenten, dadurch gekennzeichnet, dass die Modifizierung durch
- 10 a) ein Protein mit Polyphenoloxidase-Aktivität und/oder
- b) eine Enzym-Mischung enthaltend Hydrolasen, Oxidoreduktasen und Peroxidasen
- 15 erfolgte.
2. Medium nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um ein Gel und besonders bevorzugt im (teil-)getrockneten und/oder (teil-)rehydratisierten Zustand handelt.
3. Medium nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Polymer-Komponente monophenolische Substituenten trägt.
4. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet,
- 25 dass die Polymer-Komponente mindestens ein Polysaccharid, insbesondere mit (un-)substituierten Zimtsäureester-Gruppen darstellt.
5. Medium nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass es als Polysaccharid ein Arabinoxylan und/oder ein Pektin enthält.

6. Medium nach einem der Ansprüche 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Pektin-Komponente aus Chenopodiaceen und insbesondere aus Zuckerrüben oder deren Pulpe stammt.
- 5 7. Medium nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass es Pektin enthält, bei dem mindestens eine der Arabinose-Gruppen entfernt wurde, vorzugsweise unter leicht sauren Bedingungen bei einem pH-Wert zwischen 6,0 und 7,5 und/oder mit Hilfe eines Enzyms und besonders bevorzugt mit Hilfe einer Arabinofuranosidase.
8. Medium nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Arabinoxylan-Komponente aus Cerealien wie z. B. Mais oder Weizen und insbesondere aus Mehl oder Schrot stammt.
- 15 9. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Polymer-Komponente mit einer Polyphenol-Oxidase und besonders bevorzugt mit einer Tyrosinase modifiziert wurde.
- 20 10. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Polyphenol-Oxidase aus Pflanzen der Familie der Solanaceen und besonders bevorzugt aus Kartoffeln, aus Apfel, Aubergine, Chicoree, Banane, Avocado, Teestrauch oder Champignon stammt.
- 25 11. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Modifizierung mit einer Enzym-Mischung enthaltend eine β -Galactosidase, Glucose-Oxidase, Peroxidase und gegebenenfalls eine Katalase erfolgte.
- 30 12. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass es einem Trocknungsprozess unterworfen wurde.

13. Medium nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet,
dass die in ihm enthaltenen Enzyme und besonders bevorzugt die für die
Modifizierung verantwortlichen Enzyme, insbesondere Oxidoreduktasen,
Peroxidasen und/oder Hydrolasen, nach erfolgter Modifizierung in nicht
5 aktiver Form vorliegen.

14. Medium nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es Enzyme
enthält, die chemisch und/oder thermisch inaktiviert wurden.

10 15. Verwendung des wasserhaltigen Mediums nach einem der Ansprüche 1
bis 14 im Nahrungsmittelbereich, im Bereich der Kosmetik und/oder für
pharmazeutische Zwecke, besonders bevorzugt als Texturierungsmittel,
viskositätsaufbauendes Agens, Geliermittel, als Filmbildner, als
rheologisches Zusatzmittel oder als Stabilisierungsmittel.

16. Verfahren zur Herstellung eines wasserhaltigen Mediums mit erhöhter
Viskosität, dadurch gekennzeichnet, dass

a) mindestens ein Teil einer gelierfähigen Polymer-Komponente mit
phenolischen Substituenten in einem wässrigen Medium gelöst vorgelegt
20 wird, dann

b) der Lösung aus Stufe a) bei Raumtemperatur eine angelöste
Oxidoreduktase und/oder Peroxidase und/oder Hydrolase und/oder
Katalase pflanzlichen oder pilzlichen Ursprungs zugesetzt wird,
25 anschließend

c) die Lösung aus Stufe b) für mindestens 15 Minuten bei
Temperaturen zwischen 15 und 60 °C gerührt wird, und schließlich

30 d) gegebenenfalls die in der aus Stufe c) erhaltenen Lösung
enthaltenen Enzyme thermisch und/oder chemisch inaktiviert werden.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass in
Verfahrensstufe a) als Polymer-Komponente mindestens eine der Reihe
Oligo- oder Polysaccharid-, Alkohol-, Lactat-, Glutamat-, Pektin- und ein
Lactose-haltiges Medium, vorzugsweise Milch oder ein Milch-haltiges
5 Medium vorgelegt wird.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 oder 17, dadurch
gekennzeichnet, dass in Verfahrensstufe b) mindestens eine
Galaktosidase, Glucose-Oxidase, Meerrettich-Peroxidase, Laccase oder
10 Polyphenol-Oxidase zugesetzt wird.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 18, dadurch gekennzeichnet,
dass die aus Verfahrensstufe b) erhaltene Lösung gegebenenfalls nach
Zugabe weiterer gelierfähiger und gegebenenfalls modifizierter Polymere
15 mindestens einem Trocknungsschritt unterzogen wird.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass das aus dem
Trocknungsschritt erhaltene Pulver rehydratisiert wird.
- 20 21. Wasserhaltiges Medium mit erhöhter Viskosität, herstellbar mit einem
Verfahren nach den Ansprüchen 16 bis 20.
22. Medium nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die in ihm
enthaltenen Enzyme und besonders bevorzugt die in Verfahrensstufe b)
25 zugesetzten Enzyme in nicht aktiver Form vorliegen.
23. Verwendung des nach einem der Ansprüche 16 bis 20 erhaltenen
wasserhaltigen Mediums im Nahrungsmittelbereich, im Bereich der
Kosmetik und/oder für pharmazeutische Zwecke, besonders bevorzugt als
30 Texturierungsmittel, viskositätsaufbauendes Agents, Geliermittel, als
Filmbildner, als rheologisches Zusatzmittel oder als Stabilisierungsmittel.

Abbildung 1

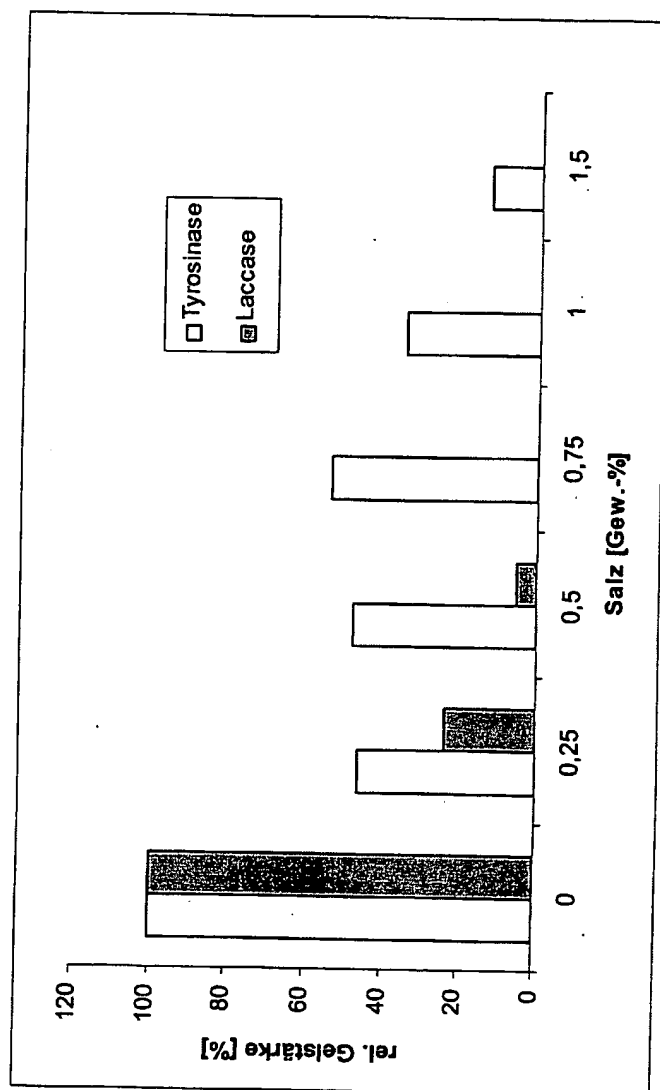
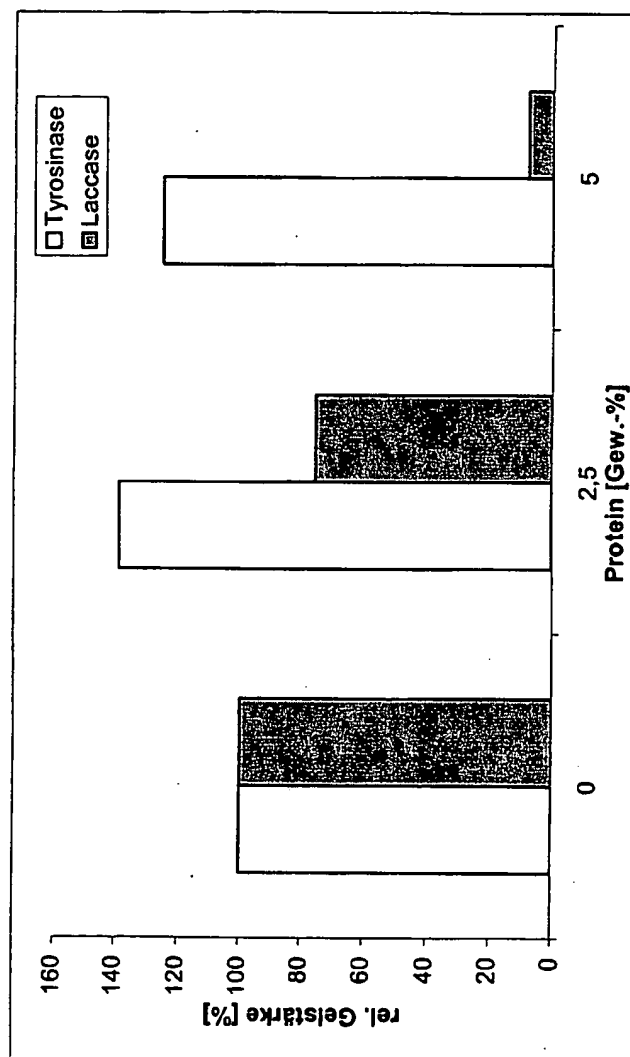


Abbildung 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/03/10570

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12P19/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	THALMANN CLAUDIA RITA ET AL: "Enzymatic cross-linking of proteins with tyrosinase" EUROPEAN FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY, vol. 214, no. 4, April 2002 (2002-04), pages 276-281, XP002264794 ISSN: 1438-2377 the whole document --- -/--	1-23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

* & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 December 2003

Date of mailing of the international search report

13/01/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Pinheiro Vieira, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/E 03/10570

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FIGUEROA-ESPINOZA M C ET AL: "OXIDATIVE CROSS-LINKING OF PENTOSANS BY A FUNGAL LACCASE AND HORSERADISH PEROXIDASE: MECHANISM OF LINKAGE BETWEEN FERULOYLATED ARABINOXYLANS" CEREAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. MINNEAPOLIS, US, vol. 75, no. 2, 1 March 1998 (1998-03-01), pages 259-265, XP000739677 ISSN: 0009-0352 the whole document ---	1-23
X	WO 98 22513 A (DALGETY PLC ;FITCHETT COLIN STANLEY (GB)) 28 May 1998 (1998-05-28) the whole document ---	1-23
X	LABAT E ET AL: "Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentosans during mixing" FOOD HYDROCOLLOIDS, vol. 15, no. 1, January 2001 (2001-01), pages 47-52, XP002264795 ISSN: 0268-005X the whole document ---	1-23
X	US 6 232 101 B1 (HELDT-HANSEN HANS PETER ET AL) 15 May 2001 (2001-05-15) cited in the application the whole document ---	1-23
X	US 5 998 176 A (PEDERSEN LARS SAABY ET AL) 7 December 1999 (1999-12-07) cited in the application the whole document -----	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/EP 93/10570

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9822513	A	28-05-1998	AU 737487 B2	23-08-2001
			AU 4958997 A	10-06-1998
			DE 69711675 D1	08-05-2002
			DE 69711675 T2	21-11-2002
			EP 0939773 A1	08-09-1999
			ES 2175372 T3	16-11-2002
			WO 9822513 A1	28-05-1998
			HU 0200915 A2	29-07-2002
			TR 9901117 T2	21-07-1999
			US 2002028197 A1	07-03-2002
			ZA 9710506 A	10-06-1998
US 6232101	B1	15-05-2001	AT 198604 T	15-01-2001
			AU 3074595 A	22-02-1996
			BR 9508350 A	04-11-1997
			CA 2195640 A1	08-02-1996
			CZ 9700205 A3	14-05-1997
			DE 69519852 D1	15-02-2001
			DE 69519852 T2	02-08-2001
			WO 9603440 A1	08-02-1996
			EP 0750641 A1	02-01-1997
			ES 2155523 T3	16-05-2001
			FI 970274 A	23-01-1997
			HU 77999 A2	28-04-1999
			JP 10502962 T	17-03-1998
			PT 750641 T	29-06-2001
US 5998176	A	07-12-1999	AT 201699 T	15-06-2001
			AU 702120 B2	11-02-1999
			AU 1540397 A	20-08-1997
			BR 9706975 A	06-04-1999
			CN 1209813 A , B	03-03-1999
			DE 69705023 D1	05-07-2001
			DE 69705023 T2	14-02-2002
			WO 9727221 A1	31-07-1997
			EP 0876403 A1	11-11-1998
			JP 2000503212 T	21-03-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

PCT/03/10570

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12P19/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETERecherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	THALMANN CLAUDIA RITA ET AL: "Enzymatic cross-linking of proteins with tyrosinase" EUROPEAN FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY, Bd. 214, Nr. 4, April 2002 (2002-04), Seiten 276-281, XP002264794 ISSN: 1438-2377 das ganze Dokument --- -/--	1-23

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. Dezember 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

13/01/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Pinheiro Vieira, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	FIGUEROA-ESPINOZA M C ET AL: "OXIDATIVE CROSS-LINKING OF PENTOSANS BY A FUNGAL LACCASE AND HORSERADISH PEROXIDASE: MECHANISM OF LINKAGE BETWEEN FERULOYLATED ARABINOXYLANS" CEREAL CHEMISTRY, AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. MINNEAPOLIS, US, Bd. 75, Nr. 2, 1. März 1998 (1998-03-01), Seiten 259-265, XP000739677 ISSN: 0009-0352 das ganze Dokument ---	1-23
X	WO 98 22513 A (DALGETY PLC ;FITCHETT COLIN STANLEY (GB)) 28. Mai 1998 (1998-05-28) das ganze Dokument ---	1-23
X	LABAT E ET AL: "Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentosans during mixing" FOOD HYDROCOLLOIDS, Bd. 15, Nr. 1, Januar 2001 (2001-01), Seiten 47-52, XP002264795 ISSN: 0268-005X das ganze Dokument ---	1-23
X	US 6 232 101 B1 (HELDT-HANSEN HANS PETER ET AL) 15. Mai 2001 (2001-05-15) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1-23
X	US 5 998 176 A (PEDERSEN LARS SAABY ET AL) 7. Dezember 1999 (1999-12-07) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-23

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

PCT/3/10570

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9822513 A	28-05-1998	AU 737487 B2	23-08-2001
		AU 4958997 A	10-06-1998
		DE 69711675 D1	08-05-2002
		DE 69711675 T2	21-11-2002
		EP 0939773 A1	08-09-1999
		ES 2175372 T3	16-11-2002
		WO 9822513 A1	28-05-1998
		HU 0200915 A2	29-07-2002
		TR 9901117 T2	21-07-1999
		US 2002028197 A1	07-03-2002
		ZA 9710506 A	10-06-1998
US 6232101 B1	15-05-2001	AT 198604 T	15-01-2001
		AU 3074595 A	22-02-1996
		BR 9508350 A	04-11-1997
		CA 2195640 A1	08-02-1996
		CZ 9700205 A3	14-05-1997
		DE 69519852 D1	15-02-2001
		DE 69519852 T2	02-08-2001
		WO 9603440 A1	08-02-1996
		EP 0750641 A1	02-01-1997
		ES 2155523 T3	16-05-2001
		FI 970274 A	23-01-1997
		HU 77999 A2	28-04-1999
		JP 10502962 T	17-03-1998
		PT 750641 T	29-06-2001
US 5998176 A	07-12-1999	AT 201699 T	15-06-2001
		AU 702120 B2	11-02-1999
		AU 1540397 A	20-08-1997
		BR 9706975 A	06-04-1999
		CN 1209813 A ,B	03-03-1999
		DE 69705023 D1	05-07-2001
		DE 69705023 T2	14-02-2002
		WO 9727221 A1	31-07-1997
		EP 0876403 A1	11-11-1998
		JP 2000503212 T	21-03-2000

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.